

Niveles de inmunoglobulina G en saliva como marcador biológico de la enfermedad periodontal

Inmunoglobulin G levels in saliva as biological marker in periodontal disease

Resumen

El presente estudio evaluó la concentración de inmunoglobulina G (IgG) en saliva total y su papel como marcador biológico en la enfermedad periodontal. Se incluyeron 50 individuos sanos y 40 pacientes con enfermedad periodontal como grupos control y de estudio respectivamente. El grupo de estudio se dividió en subgrupos de 20 individuos, gingivitis y periodontitis. El examen clínico evaluó placa dentaria, sangrado al sondaje y profundidad de sondaje antes y después de la Fase I del tratamiento. En ambos momentos se tomaron muestras de saliva total para determinar la concentración de IgG mediante el análisis espectrofotométrico de su absorbancia.

Se encontró que a mayor progresión de la enfermedad periodontal los niveles de IgG eran más elevados encontrándose diferencias significativas entre pacientes sanos, con gingivitis y periodontitis. Luego del tratamiento los valores de pacientes con gingivitis disminuyeron significativamente alcanzando valores normales. En los individuos con periodontitis los valores disminuyeron significativamente pero sin alcanzar valores normales. Asimismo, la variación de los niveles de IgG se correlacionaba más fuertemente con la profundidad de sondaje en relación a los otros parámetros diagnósticos.

Se concluyó que los niveles de IgG en saliva total son marcadores biológicos importantes en la evaluación de la presencia, progresión y efectividad del tratamiento en la enfermedad periodontal

Abstract

This study evaluated the concentration of immunoglobulin (IgG) in saliva and its role as a biological marker in periodontal disease. For this study, 50 healthy people and 40 patients with periodontal disease were included as control and study group respectively. The study group was divided in gingivitis and periodontitis subgroups with 20 patients each. The clinical examination evaluated, dental plaque, probing bleeding and probing depth before and after the first phase of treatment. It was taken samples of saliva to determine the IgG concentration through spectrophotometric analysis of its absorbance, in both moments.

We found, that the greater the progression of periodontal disease, the most elevated IgG level, showing statistical significant differences between healthy group and gingivitis and periodontitis groups. After treatment, gingivitis group scores decreased until they reached normal rates. The periodontitis group scores, decreased, but not to levels of healthy group. IgG level variations was strongly related to probing depth diagnostic parameter than the other two. We concluded that, IgG levels in total saliva are important biological markers for evaluating periodontal disease's presence, progression, treatment and effectiveness.

Francis Bravo-Castagnola ¹

Sixto García-Linares ²

Cesar Bonilla-Ferreira ³

^{1,2} Dpto. Académico Médico Quirúrgico

³ Dpto. Ciencias Básicas

¹⁻³ Facultad de Odontología de la UNMSM.
Lima, Perú

Correspondencia:

C.D. Francis Bravo Castagnola

Jr. Pasos 387, Barranco. Lima, Perú

Tel.: 3730057 / 998049477

E-mail: fgbc2003@hotmail.com

Palabras clave: Enfermedad periodontal. Inmunoglobulina G. Marcador biológico. Saliva.

Keywords: Periodontal disease. Immunoglobulin G. Biological marker. Saliva.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años el entendimiento, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad periodontal han avanzado notablemente. Es así que muchas investigaciones relacionadas con la epidemiología, fisiopatología y bioquímica de la enfermedad periodontal han alterado grandemente la visión actual de dicha patología^{1,2}.

Actualmente, se conocen muchos aspectos bioquímicos que se relacionan con la fisiopatología de la enfermedad periodontal. Asimismo, gran cantidad de investigaciones está estudiando nuevos métodos bioquímicos para mejorar

la determinación del diagnóstico, grado de riesgo individual, susceptibilidad, nivel de actividad y respuesta al tratamiento en la enfermedad periodontal. Dentro de estos nuevos parámetros tenemos diversas sustancias y moléculas que actúan como marcadores biológicos directamente relacionados con la patología periodontal³. Es así que tenemos múltiples moléculas producidas por el sistema inmunitario en respuesta a la presencia de factores patógenos entre las que encontramos a las inmunoglobulinas. Éstas son anticuerpos glucoprotéicos elaborados por los linfocitos B que aparecen en los diversos fluidos corporales y son producidos en mayores cantidades ante la presencia de infeccio-

nes tal como lo son los cuadros periodontales^{4,5}.

Existe evidencia que las subclases de inmunoglobulinas G producidas tienen injerencia en la fisiopatología de la enfermedad periodontal. Ciertos estudios informaron una preponderancia de la producción de la IgG2 respecto de la IgG1 en la enfermedad periodontal agresiva localizada⁶. Asimismo, numerosos estudios sugieren que los análisis de la presencia y variación de los anticuerpos a varios microorganismos de la biopelícula subgingival pueden ser útiles en el diagnóstico diferencial y en la clasificación de las enfermedades periodontales⁷.

Los niveles de IgG pueden ser cuantificados en diversos fluidos tales como la saliva. En los últimos años, la saliva ha demostrado un gran valor en la investigación médica y odontológica. Actualmente, diversas pruebas micro analíticas han posibilitado la utilización de la saliva no sólo como auxiliar al diagnóstico clínico, sino también el monitoreo de drogas y fármacos. En la saliva pueden aparecer diversos elementos que son constituyentes de ella, pero que pueden llegar a través de rutas intra y extracelulares. Las vías intracelulares más comunes son la difusión pasiva y el transporte activo, mientras que la ultrafiltración a través de las estrechas uniones celulares es el mecanismo extracelular más conocido. Algunas moléculas pueden llegar desde el suero atravesando las barreras de los capilares, espacios intersticiales y las membranas celulares acinarias y ductales. Del mismo modo, material procedente del fluido crevicular puede llegar a la saliva. Todos estos aspectos dan una perspectiva de las aplicaciones de la saliva para el diagnóstico de ciertas patologías. Otra de las ventajas que hacen de la saliva un excelente fluido para realizar pruebas diagnósticas es su relativamente fácil obtención y que la técnica para ello es completamente no invasiva⁸. En lo relacionado a la enfermedad periodontal, la saliva presenta una alto potencial no sólo en el diagnóstico de la enfermedad, sino también en la determinación de las fases activas de la enfermedad en un individuo así como la identificación de pacientes de riesgo y la eficacia del tratamiento⁹.

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal determinar si el nivel de inmunoglobulina G (IgG) en saliva total es un marcador biológico en la enfermedad periodontal presentándose en concentraciones elevadas antes del tratamiento y disminuyendo luego de éste. Se realizó mediante exámenes clínicos periodontales y análisis bioquímicos por turbidimetría. Los resultados obtenidos en la investigación fueron muy interesantes y alentadores demostrando nuestros postulados iniciales. El propósito de una investigación de este tipo es demostrar la importante interrelación que existe entre la práctica clínica y las ciencias básicas tales como la bioquímica. Comprender y aplicar esta relación ayudaría a mejorar los actuales conceptos diagnósticos y de planificación de tratamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población y selección de la muestra

El presente estudio se realizó en pacientes que acudieron a la clínica de Periodoncia

de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Para la obtención de la muestra se seleccionaron dos grupos de pacientes cuyas edades oscilaban entre 25 y 60 años y que presentaban un mínimo de 10 piezas dentarias permanentes remanentes. El primer grupo consistió de 20 pacientes con diagnóstico de gingivitis y el segundo grupo de 20 pacientes con periodontitis. Además se seleccionaron 50 individuos periodontalmente sanos, los cuales conformaron el grupo control.

Para la determinación del diagnóstico periodontal del paciente y su inclusión en su grupo correspondiente se utilizó el examen periodontal básico (EPB) propuesto por Lindhe que incluía la evaluación de presencia de placa, sangrado al sondaje (SS) y profundidad de sondaje (PS). Esta escala presentaba los siguientes criterios: sano, gingivitis leve, gingivitis moderada a severa, periodontitis leve, periodontitis severa¹⁰.

Examen clínico y toma de muestra salival

Una vez seleccionados los pacientes para cada grupo de estudio, se procedió a realizar las evaluaciones clínicas del estado periodontal y la toma de muestra salival para su análisis bioquímico. Se realizaron dos evaluaciones periodontales por cada paciente antes y después de realizada la fase I del tratamiento periodontal. Del mismo modo se tomaron dos muestras de saliva total del paciente en los mismos momentos del tratamiento periodontal. El examen clínico periodontal abarcó tres aspectos: sangrado al sondaje, presencia de placa bacteriana y profundidad de sondaje. Para la evaluación del sangrado al sondaje se utilizó el índice de Muhlemann y para la presencia de placa se utilizó el índice de Silness y Loe. Por su parte, la profundidad de sondaje fue evaluada en milímetros. La toma de la muestra de saliva total se realizó siguiendo los parámetros propuestos por Navazesh¹¹. Luego de su recolección, las muestras de saliva se almacenaron a -20 °C hasta el momento de su análisis de laboratorio.

Análisis bioquímico y determinación de concentración de IgG de la muestra salival

Para el análisis y determinación de concentración de IgG de las muestras salivales obtenidas se realizará un análisis por turbidimetría y espectrofotometría utilizándose el reactivo para IgG ByoSystems código N° 31070 y un kit de calibradores de proteínas ByoSystems N° 31075 (Fig. N° 1).

La primera fase del análisis de laboratorio fue la de determinar la absorbancia de la muestra para IgG utilizándose un espectrofotómetro Spectronic 21 (Fig. N° 2). Las muestras de saliva total almacenadas se descongelaron al medio ambiente. Para obtener una mayor uniformidad de la muestra se le centrifugó a 5000 RPM por 10 minutos. Se pipetearon 750µL del reactivo para IgG y se colocan en la cubeta de medición añadiéndoles 5µL de la muestra. Se realizó la primera medida en el espectrofotómetro a 540nm. Se colocó la cubeta en la incubadora a 37°C por 5 minutos. Luego de 5 minutos de la adición de la muestra se realizó una nueva lectura en el espectrofotómetro a 540nm. La diferencia de la primera y la segunda lectura se consideraba como la absorbancia de la muestra.



Figura N.º 1. Reactivos utilizados para la determinación de absorbancia de IgG.



Figura N.º 2. Espectrofotómetro utilizado para medición de absorbancia de IgG.

Luego se realizó el procedimiento para la determinación de la concentración de IgG en saliva total para lo cual se utilizó el kit de calibradores de proteínas. Este kit constaba de cinco sueros líquidos de origen humano que contienen concentraciones de proteínas predeterminadas de IgG y otros componentes. Se diluyeron los sueros líquidos más alto y más bajo con agua destilada consiguiéndose muestras de sueros con nuevas concentraciones. Luego se procedió a la lectura de cada uno de esas nuevas concentraciones y se leyó en el espectrofotómetro. Se utilizaron las concentraciones y las absorbancia obtenidas para construir una curva colocándose las absorbancia en el eje X y las concentraciones en el eje Y. Posteriormente se colocó la absorbancia de cada muestra en el eje X de la curva de calibración hallándose la concentración determinada de cada una.

RESULTADOS

Al concluir el estudio y evaluar las concentración de IgG en saliva total de los pacientes de los grupos control y de estudio, se observaron diferencias entre ambos así como entre los subgrupos de estudio antes del tratamiento de Fase I periodontal. Los pacientes del grupo control presentaban una concentración de IgG salival promedio de 1.76 mg/mL considerando este valor como el normal. Por su parte, los pacientes con gingivitis presentaron un valor de 5.15 mg/mL mientras que en los pacientes con periodontitis fue de 15.9 mg/mL. Asimismo se observaron diferencias en las concentraciones de IgG antes y después del tratamiento. Luego de la fase I, el valor medio de los pacientes con gingivitis disminuyó a 1.9 mg/mL. Por otro lado, en los pacientes con periodontitis el valor medio se redujo hasta 5.13 mg/mL. (Fig. N° 3).

Se utilizó la prueba de Mann - Whitney (Prueba U) para determinar la validez estadística de la diferencia de las concentraciones antes y después del tratamiento entre cada subgrupo de estudio y entre ellos y el grupo control (Tabla N° 1). Se encontró diferencias altamente significativas entre los grupos de gingivitis y periodontitis y el grupo control ($p= 0.000$, $p< 0.01$). Del mismo modo se hallaron diferencias significativas entre el grupo de gingivitis y el de periodontitis antes del tratamiento ($p= 0.000$, $p< 0.01$). Al comparar las concentraciones de IgG luego del tratamiento entre el subgrupo de gingivitis y el grupo control no se encontró diferencia significativa entre ellos ($p=0.191$, p

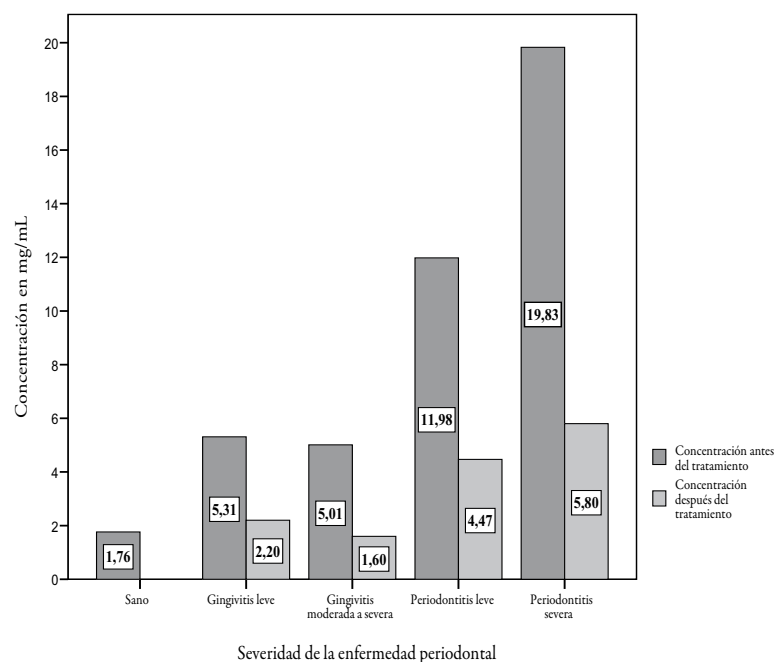


Figura N.º 3. Comparación entre los promedios de las concentraciones de los cuatro subgrupos de estudio según severidad de la enfermedad y el grupo control antes y después del tratamiento periodontal de fase I.

Tabla N.º 1. Prueba de Mann-Whitney.

Grupos comparados	N	Diferencias de medias	Significancia
Antes del tratamiento			
Sano -Gingivitis	50 -20	3.396	0.000
Sano -Periodontitis	50- 20	14.141	0.000
Gingivitis- Periodontitis	20 -20	10.746	0.000
Después del tratamiento			
Sano -Gingivitis	50 -20	0.136	0.191
Sano -Periodontitis	50- 20	3.371	0.000
Gingivitis- Periodontitis	20 -20	3.236	0.000

Tabla N.º 2. Prueba de Kruskal - Wallis.

Grupos comparados	N	Diferencias de medias	Significancia
Gingivitis leve – Gingivitis severa	40	0.3	0.085
Periodontitis leve – Periodontitis severa	40	7.85	0.000

Tabla N.º 3. Correlaciones de Pearson y Spearman.

Indicador comparado con la concentración de IgG salival	Coefficiente de Pearson	Coefficiente de Spearman
Índice de placa de Silness y Loe	0.515	0.441
Índice de sangrado al sondaje de Muhlemann	0.688	0.701
Profundidad de sondaje	0.976	0.825

> 0.05). Sin embargo, cuando se compararon las concentraciones de IgG del subgrupo de periodontitis luego del tratamiento con los controles se demostró que aún existía una diferencia altamente significativa ($p = 0.000$, $p < 0.001$).

Se aplicó la prueba de Kruskal Wallis para evaluar las diferencias entre cada grupo de estudio y entre sus grados de severidad (Tabla N° 2). Al comparar los niveles de IgG en las muestras de saliva de los dos grados de severidad de grupo de gingivitis, leve y severa, no se encontraron diferencias significativas entre ambos ($p = 0.085$, $p > 0.05$). Sin embargo, en los pacientes con periodontitis si se hallaron diferencias significativas entre los casos leves y severos ($p = 0.000$, $p < 0.01$).

Se evaluó la correlación entre la concentración de IgG en saliva y cada uno de los indicadores periodontales utilizados en el estudio antes del tratamiento. Para realizar este análisis se utilizaron los coeficientes de correlación de Pearson y Spearman (Tabla N° 3). La correlación positiva más fuerte se encontró entre la profundidad al sondaje y la concentración de IgG salival antes del tratamiento. Mientras tanto la correlación más débil hallada fue con el nivel de higiene oral del paciente.

DISCUSIÓN

En la práctica clínica actual, el examen clínico y radiográfico constituyen los métodos tradicionales de diagnóstico de la enfermedad así como de la evaluación de su progreso y efectividad del tratamiento. Sin embargo estos parámetros no arrojan respuestas exactas acerca de la verdadera destrucción de los tejidos, actividad de la enfermedad, respuesta al tratamiento y susceptibilidad de sufrir una recidiva o una nueva enfermedad. Asimismo estos parámetros no son útiles para reconocer a pacientes sanos que presentan riesgo alto a sufrir la enfermedad. Entre marcadores biológicos que se vienen estudiando para poder superar estas limitaciones, se encuentra la IgG.

En el presente estudio se encontró que la concentración de IgG en saliva total se encontraba elevada en pacientes con enfermedad periodontal en relación a los pacientes sanos del grupo control. Estudios realizados con otras técnicas bioquímicas han reportado resultados similares en saliva. Sandholm y cols. (1985)¹² utilizando técnica de ELISA encontraron una elevación del a IgG en salivan en el 57% de los pacientes con periodontitis severa que evaluó.

Stefanovic y cols. (2006) reportó una elevación de IgG2 en los pacientes que presentaban periodontitis avanzada¹³. Sin embargo, estos estudios no evaluaron la presencia de IgG en pacientes con gingivitis, haciéndolo sólo en individuos con periodontitis, ni compararon los niveles de IgG salival en ambas patologías. El presente estudio demostró que el aumento en los niveles de IgG era progresivo de acuerdo al tipo de patología siendo mayor en pacientes con periodontitis que en pacientes con gingivitis. Esta diferencia entre ambas entidades patológicas se debería a la presencia de la bolsa en los pacientes con periodontitis donde se acumulan mayor cantidad de bacterias que segregan productos que afectan la inserción conectiva y el tejido óseo produciendo una mayor respuesta inmunológica del huésped.

Al comparar las concentraciones entre el subgrupo de pacientes con gingivitis, no se encontró diferencia significativa entre los pacientes con gingivitis leve y los que presentaban gingivitis moderada a severa. Los pacientes con gingivitis leve mostraron incluso una concentración promedio ligeramente mayor que los pacientes con gingivitis moderada a severa. Por su parte los pacientes con periodontitis severa si mostraron una diferencia altamente significativa en relación a los que presentaban periodontitis leve. De modo similar, Sandholm y cols (1985) reportaron mayores variaciones en los niveles de IgG en pacientes con periodontitis severa que los que presentaban periodontitis moderada. Esto se relaciona con los datos obtenidos al comparar los tres índices periodontales utilizados en el estudio y las concentraciones de IgG en saliva. Es así que la presencia y la profundidad de la bolsa periodontal presentaban relación directamente proporcional con la variación de la concentración de IgG. La bolsa periodontal representa una mayor cantidad y variedad de bacterias periodontopatógenas que en la gingivitis. Estudios como los de Reinhardt y cols (1989)¹⁴, Lamster y cols (1990)¹⁵, Ebersole (1994)¹⁶ y Stefanovic y cols (2000)¹³ han medido la concentración de IgG en fluido crevicular demostrando su elevación en condiciones periodontalmente patógenas. Es así que a mayor profundidad de surco gingival existe mayor cantidad de fluido crevicular que puede ser vaciado en la saliva junto con los diversos marcadores presentes en éste. Por lo tanto se esperaría un mayor nivel de IgG en la saliva en presencia de bolsas periodontales y a medida que éstas se hacen más profundas. En los pacientes

con gingivitis la ausencia de bolsa periodontal se reflejaría en el hecho de no existir diferencia en sus concentraciones de IgG entre sus formas leve y severa. El índice periodontal de sangrado al sondaje también tuvo una correlación fuerte con las concentraciones de IgG en saliva total. Sin embargo, los niveles de placa bacteriana aunque presentaron una correlación positiva con las concentraciones de IgG antes el tratamiento fue mucho más débil que las dos anteriormente mencionadas. Esto se debería a la susceptibilidad de huésped a la enfermedad. La enfermedad gingival se debe básicamente a la presencia y acumulación de placa dentaria. Sin embargo, el paso de gingivitis a periodontitis así como la progresión de esta última requieren básicamente de una predisposición del individuo a la enfermedad. Es así que pacientes con gran cantidad de placa pueden no desarrollar periodontitis y pacientes con niveles muy bajos de placa bacteriana pueden desarrollar la enfermedad¹⁷.

Otro de los hallazgos importantes fue la variación de las concentraciones de IgG luego del tratamiento periodontal de fase I en el grupo de estudio. Se observó que en todos los subgrupos de estudio los niveles de IgG disminuían luego de instaurado el tratamiento. En el grupo de individuos con diagnóstico de gingivitis los valores disminuyeron hasta alcanzar valores estadísticamente muy similares a los del grupo control. Por su parte, los pacientes con periodontitis también disminuyeron sus valores posteriores al tratamiento. Sin embargo, en este grupo los valores de IgG no alcanzaron los presentados por el grupo control. La gingivitis es un cuadro reversible que regresa luego de retirar los factores etiológicos. El tratamiento de la gingivitis está constituida básicamente por la fase I del tratamiento periodontal. Luego de esto, en los tejidos gingivales deben desaparecer los signos de inflamación y volver a la situación anterior a la exposición al factor etiológico¹⁸. Por tal razón, los niveles de IgG que se encontraban elevados durante el cuadro de la gingivitis, desciende a valores normales luego del tratamiento ya que los tejidos vuelven a sus condiciones de normalidad.

Asimismo en la periodontitis, la fase I que se incluyó en el estudio puede corresponder sólo a parte inicial de su tratamiento; especialmente en los cuadros de mayor severidad. De este modo, muchos pacientes con periodontitis no sólo requieren la terapia periodontal causal que constituye la fase I. Es decir,

retirar el agente etiológico no es suficiente en muchos casos para eliminar el cuadro por completo. En el estudio, muchos pacientes con periodontitis luego de la fase I de tratamiento a pesar de la disminución en la profundidad de sondaje continuaron presentando bolsas. La presencia de estas bolsas residuales podría ser una de las razones por las cuales las concentraciones de IgG en saliva no disminuyeron hasta alcanzar valores similares a los pacientes sanos. La disminución de las concentraciones se debería también a la disminución de la inflamación en los tejidos y de la cantidad de placa. Sin embargo, la presencia de bolsas residuales constituye lugares donde aún se depositan las bacterias y sus productos que desencadenan la repuesta inmunitaria del huésped. Se esperaría así que luego de realizar la fase quirúrgica (Fase II) y la de mantenimiento (Fase III), los valores correspondiente a la concentración de IgG en saliva total de los individuos con periodontitis se reduzcan a proporciones muy similares que en los del grupo control. Estudios como el de Horibe y cols. en 1994 han reportado el descenso de los niveles de IgG luego del tratamiento periodontal¹⁹. A pesar que este estudio fue realizado en muestras de suero y no en saliva como en el presente estudio, también demuestra la factibilidad de usar la variación en los niveles de IgG para evaluar la efectividad del tratamiento periodontal.

Por todo lo anteriormente expuesto y luego de analizar los datos obtenidos puede afirmar que los niveles de IgG medidos en la saliva total son un importante marcador biológico tanto en el diagnóstico como de la evaluación de la progresión y tratamiento de la enfermedad periodontal. Probablemente en el futuro y con mayor cantidad de estudios se puedan establecer los parámetros y escalas en cada tipo de patología periodontal así como de sus respectivos grados de severidad. Es así que la medición de valores como los de la IgG puedan convertirse en pruebas rutinarias en la prevención y manejo de las diversas enfermedades del periodonto.

Al término de la investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

- Los niveles de IgG salival en pacientes sanos muestran valores similares entre sí y significativamente menores que en los pacientes del grupo de estudio.
- En los pacientes con gingivitis los niveles de IgG se encuentran elevados en relación a los pacientes sanos,

sin embargo, no hay diferencias entre los individuos con gingivitis leve y los que presentaban gingivitis moderada a severa. Sin embargo, el nivel de IgG en saliva total varía en forma directa a la progresión de la periodontitis, siendo más elevado en el estado de periodontitis severa que en la periodontitis leve.

- El nivel de IgG en saliva total guarda mejor relación con la presencia y profundidad de bolsas periodontales.
- Los niveles de IgG en saliva total disminuyen luego del tratamiento periodontal de fase I. En los pacientes con gingivitis se reducen hasta alcanzar valores normales. En los pacientes con periodontitis disminuyen significativamente pero no alcanzan valores correspondientes a muestras de pacientes periodontalmente sanos debido a la necesidad de complementar el tratamiento con una fase II.
- Por tanto, el nivel de inmunoglobulina G en saliva total es un buen marcador biológico para el diagnóstico y evaluación de la progresión de la enfermedad así como de la efectividad del tratamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arce, R. Terapia periodontal del futuro. Colombia Médica. Editorial Médica del Valle. 2004; 35 (3) (Supl. 1): 40 – 47.
2. Smalley J. Pathogenic mechanisms in periodontal disease, *Advances in dental research*. 1994; 8(2):320-328
3. Ozmeric, N. Advances in periodontal disease markers. *Clinica Chimica Acta*. 2004; 343:1-16
4. Barrios, G. Odontología. 2ª edición. Bogota - Colombia: Editorial Editar Ltda; 2004.
5. Carranza F, Newman M, Takei H. Periodontología clínica. 9ª ed. Buenos Aires - Argentina: Editorial McGraw-Hill Interamericana; 2004.
6. Hamilton, Wilson B. Immunoglobulin G2 antibodies promote neutrophil killing of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infection and immunity*. 1995; 63(3):1070-75.
7. Mooney, Kinane. Humoral immune responses to *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis and rapidly progressive periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology*. 1994; 9(6):321-326.
8. Medina M, Merino L. Gorodner J. Utilidad de la saliva como fluido diagnóstico. Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional del Nordeste. Resistencia - Chaco - Argentina; 2002.
9. Kaufman E, Lamster I. Analysis of saliva for periodontal diagnosis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2000; 2:453-465
10. Lindhe J. Periodontología clínica e implantología odontológica. 4ª ed. Buenos Aires - Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2003.
11. Navazesh, M. Methods for collecting saliva. *Annals of The New York Academy of Sciences*. 1993; 694: 72-77.
12. Sandholm, Tolo, Olsen. Salivary IgG, a parameter of periodontal disease activity? *Journal of Clinical Periodontology*. 1987; 14(5): 289, 294.
13. Stefanovic, Markovic, Ilic, Brajovic, Milosevic. Hypogalactosylation of salivary and gingival fluid immunoglobulin G in patients with advanced periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2006; 77(11):1887-93.
14. Reinhardt, McDonald, Bolton, Dubois, Kaldahl. IgG subclasses in gingival crevicular fluid from active versus stable periodontal sites. *Journal of Periodontology*. 1989; 60(1): 44-50.
15. Lamster, Celenti, Ebersole. The relationship of serum IgG antibody titers to periodontal pathogens to indicators of the host response in crevicular fluid. *Journal of Clinical Periodontology*. 1990; 17(1):419- 425.
16. Ebersole, Capelli. Gingival crevicular fluid antibody to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in periodontal disease. *Oral Microbiology and Immunology* 1994; 9(6):335-344.
17. Kinane D. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology* 2000. 2001; 25(1):8-20.
18. Sociedad Española de Periodoncia y Osteointegración. Manual SEPA de Periodoncia y terapéutica de implantes. 1ª edición. Madrid-España: Editorial Médica Panamericana; 2005.
19. Horibe, Watanabe, Ishikawa. Effect of periodontal treatments on serum IgG antibody titers against periodontopathic bacteria. *Journal of Clinical Periodontology*. 1992; 25:510-515.

Recibido: 17-10-08

Aceptado para publicación: 12-12-08